

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И СЕКРЕТОРНОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ ТРЕМАТОДЫ
DIPLODISCUS SUBCLAVATUS (GOEZE, 1782)

Г. К. Чубрик

Кафедра эпидемиологии и паразитологии Ленинградского
Санитарно-гигиенического медицинского института и кафедра гистологии
Ленинградского Ветеринарного института

Изучено тонкое морфологическое строение органов пищеварения трематоды *D. subclavatus*. Сравнение строения клеток кишечника этого вида и других трематод позволило установить особые черты строения кишечного эпителия *D. subclavatus*, которые дают основания высказать предположение о его функциональной деятельности в процессе пищеварения.

За последние годы заметно возрос интерес к тонкой морфологии, физиологии и обмену веществ у паразитических червей. Вопрос об их питании важен как в теоретическом, так и в практическом отношениях. Однако он остается пока мало изученным. Несмотря на детальное изучение биологии и морфологии трематод (Гинецинская, 1968), тонкое микроскопическое строение их тканей и органов (в том числе пищеварительной системы) для преобладающего большинства видов остается неизвестным. Имеющиеся отечественные (Резник, 1963; Чубрик, 1967) и зарубежные (Müller, 1923; Stephenson, 1947; Gresson a. Threadgold, 1959; Dawes, 1962; Torsell a. Bjorkman, 1965) исследования микроскопического строения кишечника трематод проводились главным образом в отношении одного вида — фасциолы. В настоящей статье изложены результаты изучения микроскопического строения пищеварительной системы *D. subclavatus* (*Diplodiscidae*), ранее в этом отношении не изученной.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

D. subclavatus добывали из заднего отдела кишечника травяных лягушек, пойманных в окрестностях Ленинграда. Собрано и исследовано 30 экз. червей, в числе которых были и взрослые и неполовозрелые особи. Трематод фиксировали смесями Буэна, Хелли, Карнуа, Шаффера и 10% формалином. Применяли следующие методы окраски срезов: железный гематоксилин по Гейденгайну, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином, по Маллори, азановый метод Гейденгайна. Нуклеиновые кислоты выявлялись методом Эйнарсона и метиловым зеленым с пиронином. Кроме того, были проведены некоторые гистохимические исследования: на гликоген (ШИК-реакция по Мак-Манусу), на слизь (муцикармином) на мукопротеины (толуидиновым синим), на кислые мукополисахариды (альциановым синим) и на белки (бромфеноловым синим).

СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ

При выполнении работы основное внимание было обращено на строение кишечного эпителия *D. subclavatus*. Однако на сериях срезов была прослежена также и микроструктура переднего отдела кишечника. Ротовая при-

соска у *D. subclavatus* имеет форму терминальной конической чаши и образует в нижне-боковых частях два слепых кармашка или дивертикула, наличие которых является систематическим признаком для всех представителей *Diplodiscidae* (Скрябин, 1949). Ротовая присоска и дивертикулы имеют одинаковое строение: они состоят из довольно редких и тонких мускульных волокон, которые проходят главным образом радиально (рис. 1 и 2). В присоске имеются, кроме того, и кольцевые волокна, проходящие в вентральном ее секторе ближе к внутренней стенке. В дивертикулах кольцевые мышцы отсутствуют, но имеются хорошо выраженные продольные мышечные волокна, располагающиеся ближе к их внутренней стенке. Присоска и дивертикулы выполняют функции мускульных органов, при помощи которых *D. subclavatus* заглатывает и проталкивает пищу через пищевод в кишечник. Отсутствие глотки восполняется мускульной работой обоих дивертикулов.

В стенках присоски и дивертикулов имеются также различные по своему строению клетки. Большая часть их представлена довольно крупными амебовидными клетками с овальными ядрами (в среднем 8.8×7.0 мк, рис. 3, б). Ядра содержат мелкие глыбки хроматина и по одному крупному ядрышку. Цитоплазма клеток гомогенная, интенсивно окрашивающаяся основными красками, пиронинофильная, дает ярко положительную реакцию по Мак-Манусу, что указывает на большое содержание в ней каких-то мукополисахаридов. Часть амебовидных клеток имеет зернистую распадающуюся цитоплазму и пикнотические ядра и является дегенерирующими клетками (рис. 1, 2 и 3, в). По-видимому, описываемые клетки следует рассматривать как субкутикулярные, связанные с кутикулой, которая выстилает тонким слоем полости присоски и дивертикулов. Другой тип клеток представлен еще более крупными, но значительно реже встречающимися клетками с большими (в среднем 12.5×8.7 мк), светлыми, пузырьковидными ядрами (рис. 3, а, рис. 2, в стенке левого дивертикула). В карิโอплазме ядер имеются редкие, довольно крупные глыбки хроматина и одно большое ядрышко. Цитоплазма при примененных окрасках остается всегда светлой и имеет нежносетчатую структуру. Ее периферические участки теряются среди других клеток, границы не различимы. Эти клетки были известны под названием миобластов, так как им приписывали роль образователей мускульных волокон (Таусон, 1917). В настоящее время установлено, что они являются нервными, возможно и нейросекреторными клетками (Gresson a. Threadgold, 1963).

Пищевод *D. subclavatus* в виде узкой трубки начинается от ротовой присоски, пронизывает ее стенку и на большем своем протяжении проходит в паренхиме. Стенка пищевода имеет неклеточное строение. В ней можно различить три слоя: наружный ячеистый, средний гомогенный и плотный внутренний слой (рис. 4), обнаруживающий большое сходство с поверхностным слоем наружной кутикулы трематоды. Вокруг пищевода в паренхиме расположены многочисленные клетки, которые своими узкими вытянутыми концами погружены в наружный ячеистый слой пищевода (рис. 4). Структура их ядер и цитоплазмы очень сходна с таковыми ранее описанных клеток из присоски и дивертикулов. Среди них также встречаются нормальные и дегенерирующие клетки. По-видимому, эти клетки — спутницы пищевода — тоже являются по своей природе субкутикулярными элементами, а сам пищевод представляет собой эктодермальную переднюю кишку, выстланную изнутри кутикулой. Клетки пищевода, сопровождающие его на всем протяжении, исчезают в том месте, где начинается кишечник.

В нижней части пищевод значительно расширяется, а его стенки утолщаются. В специальной литературе эта часть пищевода называется задним фарингсом, что является не совсем правильным, так как при гистологическом исследовании никаких мускульных образований здесь не обнаружено. В месте бифуркации внутренний слой пищевода образует валикообразные утолщения, за которыми сразу начинается слой клеток кишечного эпителия (рис. 5). Аналогичная картина перехода передней кишки в среднюю была отмечена и у других видов трематод (Таусон, 1917; Чубрик, 1967).

Кишечные ветви *D. subclavatus* проходят в боковых частях тела и, достигнув верхнего края задней присоски, заканчиваются слепо. На продольных и сагитальных срезах они имеют вид слегка извитых трубок с толстыми стенками и узким просветом, на поперечных срезах кишечник имеет округлую или овальную форму и достигает в диаметре от 115 до 178 мк. Стенки его снаружи образованы тонким слоем коллагеновых и мышечных волокон, за которыми следует однородный слой крупных эпителиальных клеток, несущих на свободных концах широкую каемку из длинных и прямых микроворсинок (рис. 6, 7). Форма просвета кишечника варьирует от узкой щели до овала и зависит от степени наполнения кишечника пищей. Пищевые массы представляли собой комочки слизи с отдельными плотными включениями, по-видимому, клетками кишечника лягушки.

Клетки кишечного эпителия *D. subclavatus* крупные, на срезах прямоугольной или почти квадратной формы (рис. 6, 7). Их базальные концы граничат с слоем коллагеновых волокон и мышц, а апикальные образуют ровную линию (на одном поперечном срезе). Высота клеток без каемки в среднем достигает 14 мк, а у разных по величине особей она колеблется от 8 до 24 мк. Изредка встречаются клетки, которые своими апикальными концами вдаются в просвет кишечника. Возможно, это дегенирирующие клетки, «выжимающиеся» в просвет кишечника, как это замечено в отношении клеток эпителия средней кишки аскариды (Доброхотова, 1965). Цитоплазма кишечных клеток при примененных методах окраски всегда окрашивается интенсивно, и при этом отчетливо выявляется ее продольно-волокнистая структура. Галлоцианин дает равномерное окрашивание цитоплазмы. Окраска метиловым зеленым с пиронином обнаруживает ее пиронинофильность. Последняя обусловлена находящимися в цитоплазме многочисленными мельчайшими зернами, окрашивающимися пиронином в яркий красно-малиновый цвет. Цитоплазма кишечных клеток *D. subclavatus*, следовательно, чрезвычайно богата РНК. В то же время реакция на гликоген показала, что кишечные клетки его не содержат, как не содержат и кислых мукополисахаридов.

Ядра кишечного эпителия характеризуются крупными размерами и в среднем достигают 7.5×5.6 мк. Располагаются ближе к основанию клеток. В кариоплазме имеется довольно значительное количество глыбок хроматина и крупное ядрышко. Процесс обновления кишечного эпителия происходит путем митотических делений его клеток (рис. 6). Однако в литературе приводятся данные о том, что воспроизведение клеток кишечного эпителия у трематод может происходить также амитотическим путем (Резник, 1963). От апикальных концов кишечных клеток отходят длинные микроворсинки, в совокупности образующие каемку, высота которой может колебаться от 10 до 34 мк, достигая в среднем 22 мк. Весьма характерно, что микроворсинки окрашиваются совершенно иначе, чем цитоплазма клеток кишечника. Так, при азановом методе и при окраске по Маллори цитоплазма розовая и красно-фиолетовая, а зона микроворсинок голубая или синяя.

Галлоцианин и пиронин не окрашивают микроворсинки, так как в них совсем нет РНК в отличие от цитоплазмы. Муцикармин дает розовато-фиолетовое окрашивание в зоне микроворсинок, а бромфеноловый синий — голубое. При обработке срезов толудиновым синим метакромазия не наступала. Реакция ШИК по Мак-Манусу давала в области каемки слабо положительный эффект. Проведенные гистохимические исследования дают основание предположить, что микроворсинки кишечных клеток содержат мукопротеиды, связанные с белком. Наблюдения показали, что длина микроворсинок колеблется и может быть неодинаковой даже на одном срезе (рис. 7). Было замечено, что в тех местах кишечника, где имеются пищевые массы, микроворсинки становятся более плотными и заметно укорачиваются. Заметим, что клетки кишечного эпителия при этом совершенно не меняют своей формы. Наблюдаемые морфологические изменения, очевидно, связаны с функциональной деятельностью кишечного эпителия.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Строение кишечного эпителия трематод, как уже говорилось, было изучено наиболее подробно только в отношении одного вида — фасциолы (*Fasciola hepatica*). Клетки ее кишечного эпителия характеризуются резко выраженной базофильностью, непостоянством высоты и формы. На свободных концах клеток в виде густой и спутанной бахромы сидят микроворсинки (Dawes, 1962; Резник, 1963; Чубрик, 1967). Изменения высоты кишечных клеток исследователи связывают с их функциональной деятельностью (Stephenson, 1947; Dawes, 1962). Исследованиями Мюллера (Müller, 1923), а позже Дауэса (Dawes, 1962), Резник (1963) и Чубрик (1967) было выяснено, что клетки эпителия кишечника фасциолы являются активными секреторными клетками, выделяющими в просвет кишечника обильный секрет в виде зерен и мелких капель. Образование секрета происходит в апикальной части клеток, а выделение его осуществляется по типу апокринной секреции. Активная секреторная деятельность кишечных клеток приводит к набуханию апикальных концов клеток и к увеличению их высоты. После отторжения секрета клетки заметно укорачиваются. Таким образом, можно заключить, что кишечные клетки фасциолы претерпевают во время секреторного цикла значительные морфологические изменения. Электронномикроскопические исследования фасциолы (Gresson a. Threadgold, 1959; Torsell a. Björkman, 1965) подтвердили результаты наблюдений в световой микроскоп и, кроме того, показали, что описанные выше процессы в клетках кишечного эпителия сопровождаются нарушением структуры эндоплазматической сети, набуханием многочисленных митохондрий и появлением в цитоплазме большого количества капель секрета. Некоторые исследователи полагают, что секреторные клетки кишечника фасциолы выполняют также функции абсорбции пищи. Важное значение в процессе поглощения веществ из кишечника придается микроворсинкам кишечных клеток; кроме этого, микроворсинкам приписывается роль защитного барьера, предохраняющего клетки кишечника от механических повреждений (Dawes, 1962). Аналогичные, но менее многочисленные исследования были проведены в отношении *Dicrocoelium dendriticum* (= *D. lanceatum*) (Резник, 1963). По данным автора, кишечные клетки дикроцелий также являются специализированными секреторными клетками, содержащими в своей цитоплазме большое количество РНК. В морфологическом отношении эти клетки отличаются от кишечных клеток фасциолы отсутствием микроворсинок. Процесс секретотделения протекает тоже несколько иначе — в просвет кишечника дикроцелий отторгается большая часть цитоплазмы клетки, богатая пищеварительным секретом, а в отдельных случаях и вся клетка целиком, что дает основание Резник (1963) констатировать голокринный тип секреции у дикроцелий.

Результаты исследований тонкого строения кишечника дикроцелий и фасциол показывают, что клетки кишечного эпителия этих двух видов трематод представляют два различных морфологических типа. Что касается *D. subclavatus*, то следует заметить, что ее кишечные клетки, характеризующиеся, как уже говорилось, постоянством формы и отсутствием каких-либо морфологических изменений в процессе функционирования, отличаются и от кишечных клеток фасциол, и от таковых дикроцелий. Однако существенным сходством всех трех трематод является высокое содержание в цитоплазме их кишечных клеток рибонуклеиновой кислоты, что вообще характерно для клеток эпителия кишечника беспозвоночных и позвоночных животных. Клетки кишечника *D. subclavatus*, как и у фасциолы, на апикальных концах несут микроворсинки. Но микроворсинки у *D. subclavatus* значительно длиннее, имеют упорядоченное расположение, образуя ровную каемку, которая отграничивает эпителий от просвета кишечника. Наблюдения показали, что микроворсинки изменяются (укорачиваются, уплотняются) в тех местах кишечной трубки, где происходят процессы пищеварения. На основании особенностей строения кишечного эпителия *D. subclavatus* можно предположить, что у исследуемой трематоды

процессы пищеварения протекают по типу пристеночного, являющегося преобладающим типом пищеварения у позвоночных и многих беспозвоночных животных (Уголев, 1963).

ВЫВОДЫ

1. Эпителий средней кишки *D. subclavatus* состоит из крупных прямоугольных клеток, цитоплазма которых содержит большое количество рибонуклеиновой кислоты. От апикальных концов клеток отходят длинные, прямые микроворсинки, образующие высокую каемку.

2. В процессе пищеварительной деятельности сами кишечные клетки морфологически не изменяются, но микроворсинки заметно уплотняются и укорачиваются в тех участках кишечника, где находятся перевариваемые пищевые массы.

3. Морфологические особенности строения кишечного эпителия *D. subclavatus* позволяют предположить наличие у данной трематоды пристеночного пищеварения.

Литература

- Гинецинская Т. А. 1968. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Изд. «Наука»: 7—395.
- Доброхотова И. И. 1965. Об изменении клеточного состава эпителия средней кишки аскарид. Матер. 41-й научн. конф. Ленингр. вет. инст.: 186—189.
- Резник Г. К. 1963. Сравнительное гистологическое и гистохимическое исследование кишечника у половозрелых форм *Fasciola hepatica* L., 1758 и *Dicrocoelium lanceatum* St. et Hass., 1896. Тр. всесоюзн. инст. гельминтол., 10: 238—244.
- Уголев А. М. 1963. Пристеночное (контактное) пищеварение. Изд. АН СССР. Л.: 5—170.
- Скрябин К. И. 1949. Трематоды животных и человека. Изд. АН СССР. М.—Л., 3: 1—609.
- Таусон А. 1917. *Adolescaria ophiurae*, паразит *Ophiura sarsi* Züt. Зоол. вестник, 2 (1—2): 149—202.
- Чубрик Г. К. 1967. Гистологическая характеристика кишечника *Fasciola hepatica* L. Сб. работ Ленингр. вет. инст., 28: 724—731.
- Cohn L. 1904. Helminthologische Mittheilungen, II, Arch. f. Naturgesch., 70: 223—258.
- Dawes B. 1962. A histological study of the caecal epithelium of *Fasciola hepatica* L. Parasitol., 52 (3—4): 482—493.
- Gresson R. A. R. and Threadgold L. T. 1959. A light and electron microscope study of the epithelial cells of gut of *Fasciola hepatica* L. J. Biophys., Biochem., Cytol., 6: 157—162.
- Gresson R. A. R. and Threadgold L. T. 1963—1964. The large neurones and interstitial material of *Fasciola hepatica* L. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, 68 (4): 261—266.
- Müller W. 1923. Die Nahrung von *Fasciola hepatica* und ihre Verdauung. Zool. Anz., 57: 273—281.
- Stephenson W. 1947. Physiological and histochemical observation on the adult liver fluke, *Fasciola hepatica* L. Parasitol., 38 (3—4): 123—127.
- Torsell W. and Björkman N. 1965. Morphological and biochemical studies on absorption and secretion in the alimentary tract of *Fasciola hepatica* L. Parasitol., 51 (2): 217—223.

PECULIARITIES OF STRUCTURE AND SECRETORY ACTIVITY OF INTESTINAL EPITHELIAL CELLS OF THE TREMATODE DIPLODISCUS SUBCLAVATUS (GOEZE, 1782)

G. K. Chubrik

SUMMARY

Histological and histochemical studies of the fine structure of intestinal cells of *D. subclavatus* have established that epithelial cells lining intestinal branches are specialized secretory cells. However, they do not undergo great morphological changes as those of the intestinal epithelium of the liver fluke. Their free ends bear microvilli which are supposed to take part in digestion processes.

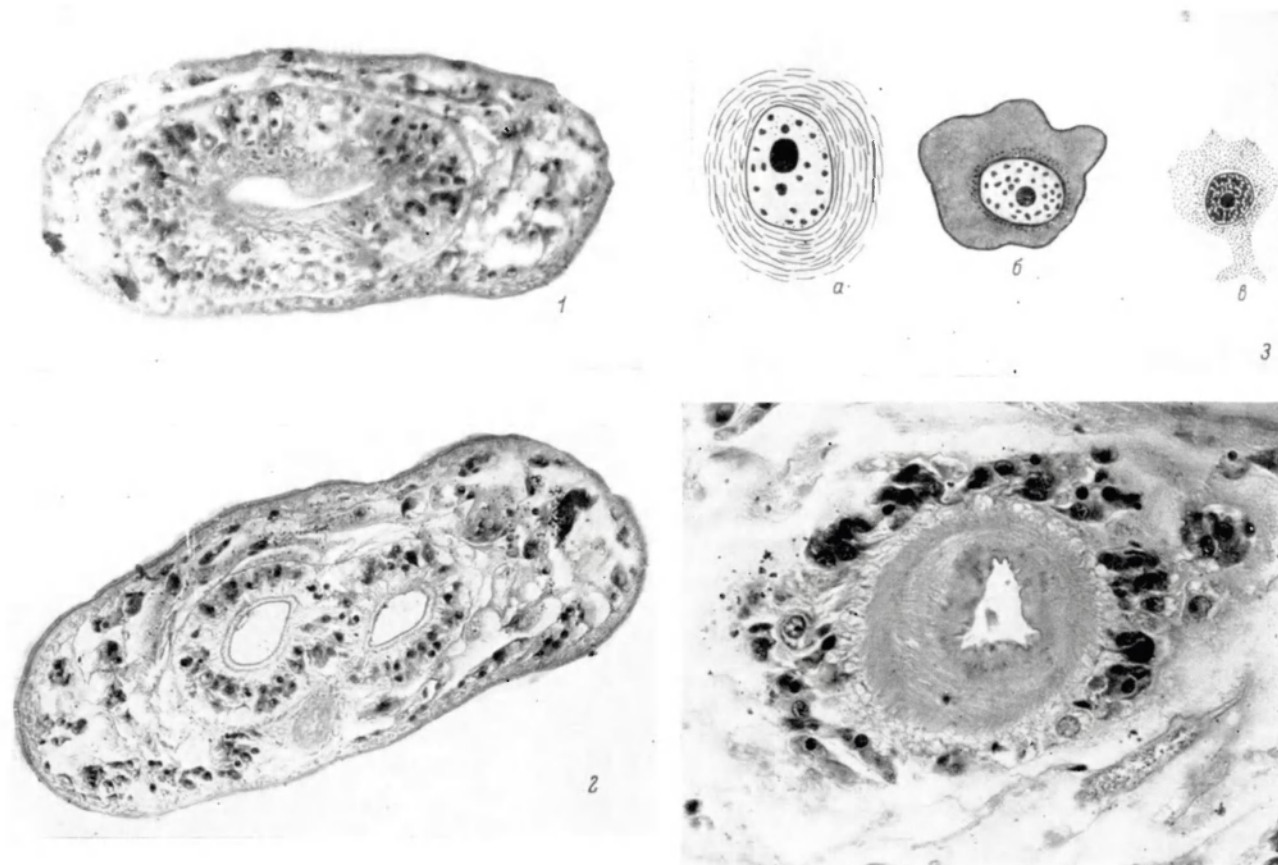


Рис. 1. Поперечный срез в области ротовой присоски. Шаффер, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином. 6×20 .

Рис. 2. Поперечный срез в области дивертикулов и начала пищевода. Шаффер, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином. 6×20 .

Рис. 3. Типы клеток из ротовой присоски и дивертикулов. 10×90 . Объяснение в тексте.

Рис. 4. Поперечный срез в области пищевода. Шаффер, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином. 6×40 .

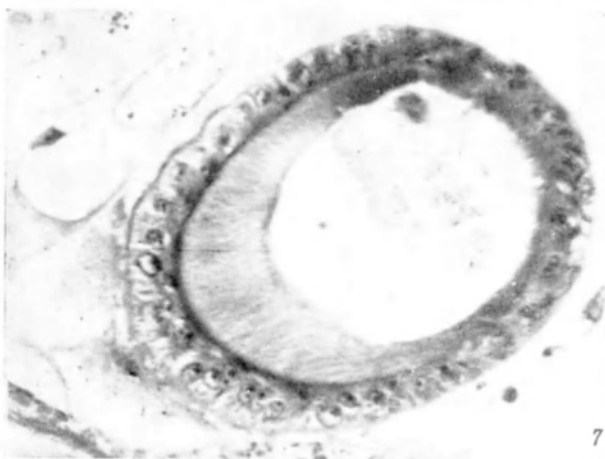
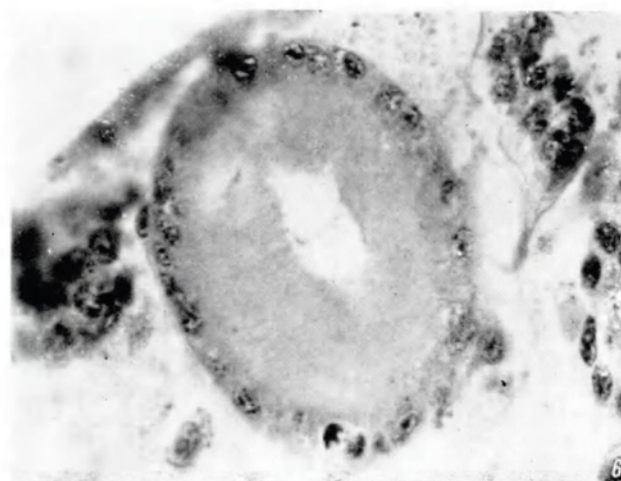


Рис. 5. Поперечный срез в области бифуркации кишечника. Шаффер, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином. 6×20 .

Рис. 6. Поперечный срез средней кишки. Виден митоз клетки кишечного эпителия. 10% формалин, гематоксилин Гарриса с пикроиндигокармином. 6×60 .

Рис. 7. Поперечный срез средней кишки, содержащей пищевые массы. Шаффер, железный гематоксилин с Маллори. 6×40 .